

**Procedimentos para a coleta de amostras de leite para contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e detecção de resíduos de antibióticos**





ISSN 0103-9865  
Outubro, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Rondônia  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## ***Documentos 150***

### **Procedimentos para a coleta de amostras de leite para contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e detecção de resíduos de antibióticos**

Juliana Alves Dias  
Fabiane Goldschmidt Antes

Porto Velho, RO  
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Rondônia**

BR 364 km 5,5, Caixa Postal 127, CEP 76815-800, Porto Velho, RO

Telefones: (69) 3901-2510, 3225-9387, Fax: (69) 3222-0409

www.cpafro.embrapa.br

**Comitê de Publicações**

Presidente: *Cléber de Freitas Fernandes*

Secretária: *Marly de Souza Medeiros e Sílvia Maria Gonçalves Ferradaes*

Membros:

*Marília Locatelli*

*Rodrigo Barros Rocha*

*José Nilton Medeiros Costa*

*Ana Karina Dias Salman*

*Luiz Francisco Machado Pfeifer*

*Fábio da Silva Barbieri*

*Maria das Graças Rodrigues Ferreira*

Normalização: *Daniela Maciel*

Editoração eletrônica: *Marly de Souza Medeiros*

Revisão gramatical: *Wilma Inês de França Araújo*

**1ª edição**

1ª impressão (2012): 100 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.  
Embrapa Rondônia

---

Dias, Juliana Alves.

Procedimentos para a coleta de amostras de leite para contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e detecção de resíduos de antibiótico / Juliana Alves Dias, Fabiane Goldschmidt Antes. -- Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2012.

15 p. (Documentos / Embrapa Rondônia, ISSN 0103-9865; 150).

1. Leite – Análise – Amostra - Qualidade. I. Antes, Fabiane Goldschmidt. II. Título. III. Série.

---

CDD(21.ed.) 637.1

© Embrapa - 2012

## **Autores**

### **Juliana Alves Dias**

Médica Veterinária, D.Sc. em Sanidade Animal, pesquisadora da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, [juliana.dias@embrapa.br](mailto:juliana.dias@embrapa.br)

### **Fabiane Goldschmidt Antes**

Química Industrial, D.Sc em Química Analítica, analista da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, [fabiane.antes@embrapa.br](mailto:fabiane.antes@embrapa.br)



# Sumário

<b>Introdução.....</b>	<b>7</b>
<b>Procedimentos para coleta de amostras de leite cru para contagem de células somáticas e contagem total de bactérias .....</b>	<b>7</b>
<b>Recomendações gerais.....</b>	<b>7</b>
Responsáveis pela coleta .....	7
Conservação da amostra e envio ao laboratório .....	8
Formulário .....	8
Materiais necessários .....	8
<b>Coleta de amostra de leite total .....</b>	<b>10</b>
Tanque de expansão .....	10
Latão .....	11
<b>Coleta de amostra de leite individual .....</b>	<b>13</b>
Ordenha manual e ordenha mecânica em balde .....	13
Ordenha mecânica com medidores de leite .....	13
<b>Procedimentos para a coleta de amostras de leite de tanques de expansão/ latões para determinação de resíduos de antibióticos .....</b>	<b>14</b>
Material necessário.....	14
Procedimento .....	14
<b>Referências .....</b>	<b>15</b>
<b>Anexo 1</b>	





# **Procedimentos para a coleta de amostras de leite para contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e detecção de resíduos de antibióticos**

---

*Juliana Alves Dias*

*Fabiane Goldschmidt Antes*

## **Introdução**

O controle da qualidade do leite cru produzido no Brasil, proveniente de rebanhos que fornecem matéria-prima para laticínios sob inspeção, está previsto na Instrução Normativa 51/2002 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), atualizada em 29/12/2011 na forma de Instrução Normativa 62. Essas normas determinam a coleta mensal de pelo menos uma amostra de leite de cada rebanho, para determinação da contagem de células somáticas (CCS), contagem total de bactérias (CTB) e detecção de resíduos de antibióticos em unidades operacionais da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL).

Os procedimentos para coleta e transporte de amostras de leite devem ser padronizados seguindo normas aceitas internacionalmente, para que os resultados obtidos por diferentes laboratórios possam ser comparados entre si. Estes resultados podem ser utilizados no monitoramento da sanidade da glândula mamária pelo produtor rural, na determinação da qualidade da matéria prima pela indústria e avaliação da qualidade e seguridade do leite pelos serviços de fiscalização.

As amostras de leite, de tanque ou latão, devem ser coletadas imediatamente antes do recolhimento do leite pelo transportador, e devem ser representativas do volume total de leite que se pretende avaliar, independente do volume produzido no rebanho.

## **Procedimentos para coleta de amostras de leite cru para contagem de células somáticas e contagem total de bactérias**

### **Recomendações gerais**

#### **Responsáveis pela coleta**

As amostras devem ser coletadas por uma pessoa treinada e que siga os procedimentos que preservem as características da amostra a fim de obter qualidade e confiabilidade dos resultados. É necessário que o mesmo seja informado sobre a importância da execução adequada dos procedimentos, riscos relativos ao contato com conservantes e sobre os cuidados higiênicos a fim de evitar contaminação da amostra e do leite do tanque ou latão.

### Conservação da amostra e envio ao laboratório

Imediatamente após a coleta, as amostras de leite devem ser acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável. A quantidade de gelo reciclável deve ser suficiente para manter a temperatura interna da caixa em, no máximo, 7 °C.

O período entre a coleta e a chegada das amostras no laboratório não deve exceder 96 horas e, de acordo com ofício nº 113/2009 DIPOA/MAPA (14/12/2009), os laboratórios da RBQL não poderão receber amostras para análises com temperatura superior a 10 °C. As amostras não devem ser congeladas para que não haja alteração dos resultados das análises.

#### Observações:

Colocar uma camada de gelo reciclável na parte inferior e nas laterais da caixa isotérmica, e outra camada sobre as amostras (Figura 1).

No espaço que sobrar acima da camada superior de gelo reciclável, completar com papel amassado. Este procedimento diminui a perda de temperatura da caixa para o meio externo e também evita que as amostras sofram choques durante o transporte até o laboratório.



Foto: Fabiane Goldschmidt

**Figura 1.** Caixa isotérmica contendo gelo reciclável para a conservação das amostras de leite até o envio ao laboratório.

### Formulário

Para o envio das amostras ao laboratório deverá ser preenchido o formulário contendo informações referentes à identificação do rebanho e procedimento de coleta, assim como quais análises estão sendo solicitadas (Anexo 1).

### Materiais necessários

#### ♦ Frascos e etiquetas

Para a coleta devem ser utilizados frascos padronizados e etiquetas de identificação disponibilizadas pelo laboratório responsável pelas análises. Os frascos devem ser armazenados fora do alcance de crianças, ao abrigo de luz e em local limpo e seco.

Os frascos e as tampas utilizados para a contagem de células somáticas e componentes são translúcidos e possuem em seu interior uma pastilha do conservante bronopol. Para a contagem bacteriana total são utilizados frascos translúcidos, com tampa vermelha, contendo

uma pastilha do conservante azidiol. Estes frascos são esterilizados e envoltos com saco plástico individual a fim de evitar contaminação (Figura 2). Os frascos devem ser abertos somente no momento da coleta da amostra e tampados imediatamente após.



**Figura 2.** A. Frasco com tampa translúcida contendo em seu interior pastilha do conservante bronopol para contagem de células somáticas (CSS); frasco com tampa vermelha contendo pastilha do conservante azidiol utilizado para a contagem bacteriana total (CTB). B. Modelo de etiquetas utilizadas para a identificação das amostras.

#### ♦ Conservantes

Os conservantes são utilizados para garantir que as amostras de leite mantenham sua integridade do momento da coleta até a execução das análises laboratoriais. Os conservantes utilizados são tóxicos e não devem ser manipulados. No momento da coleta, para evitar que o conservante entre em contato com o leite do tanque/latão, posicionar o frasco sempre fora da área de abertura dos mesmos.

#### ♦ Materiais para homogeneização e coleta

Para a coleta de amostras pode ser utilizado coletor específico ou tipo concha, fabricados em inox, devidamente higienizados. Nos casos de coleta de baldes e latões poderá ser utilizado um homogeneizador manual a fim de obter homogeneização mais adequada. Os materiais de coleta devem ser armazenados em locais adequados e, antes da sua utilização, devem ser limpos com detergente neutro ou álcool 70° (Figura 3).



**Figura 3.** Materiais utilizados na homogeneização e coleta de amostras de leite. A. Coletor de leite em inox. B. Homogeneizador manual de leite em inox.

## Coleta de amostra de leite total

### Tanque de expansão

#### ♦ Procedimentos antes da coleta

- ✓ Observar se há anormalidade no leite. Em caso de alterações não realizar a coleta e registrar a ocorrência.
- ✓ Medir o volume de leite. Se a régua permanecer no interior do tanque, secar com toalha de papel descartável, até o nível do leite. Se mantida fora do tanque, apenas lavar cuidadosamente antes de introduzi-la no tanque. Em seguida secar com toalha de papel descartável ao nível do leite. Registrar em formulário próprio (ex. Livro de registros da propriedade).
- ✓ Proceder à homogeneização do leite.
- ✓ Para a coleta adequada da amostra, o leite contido no tanque de expansão deve ser agitado para que ocorra a homogeneização suficiente dos componentes do leite, evitando erros de leitura. Há uma tendência natural de acúmulo dos glóbulos de gordura na superfície do tanque. Estes glóbulos carregam células somáticas e bactérias, e caso o leite não seja bem homogeneizado e a coleta feita inadequadamente, os resultados ficarão alterados.
- ✓ Para realizar o processo, ligar o sistema de agitação do tanque por, no mínimo, cinco minutos imediatamente antes da coleta da amostra. Quando a capacidade do tanque for acima de 5.700 litros, o tempo de agitação deve ser aumentado para dez minutos, ou de acordo com a recomendação do fabricante. As amostras devem sempre ser coletadas com o agitador parado (Figura 4).
- ✓ Verificar a temperatura do leite e registrar em formulário específico (Anexo 1).



Foto: Juliana Dias

**Figura 4.** Leite armazenado no tanque de expansão em processo de homogeneização.

#### ♦ Procedimento de coleta

- ✓ Após homogeneizar o leite, coletar amostra utilizando coletor próprio ou tipo concha, devidamente higienizado. Transferir para o frasco de CCS e CTB quantidade de leite suficiente para atingir a linha identificada no frasco como MÁX (Figura 5).

Foto: Fabiane Goldschmidt



**Figura 5.** Coleta de amostra de leite em frascos padronizados enviados pelo laboratório de qualidade do leite.

- ✓ Realizar a homogeneização da amostra, invertendo os frascos várias vezes, até a dissolução completa das pastilhas de conservante.
- ✓ Identificar as amostras colando as etiquetas no sentido vertical do frasco. Os frascos para determinação de CCS e CTB do mesmo tanque/ latão terão o mesmo número descrito na etiqueta, o qual deverá corresponder à identificação do referido rebanho (Figura 6).
- ✓ O acondicionamento das amostras deve ser realizado conforme descrito no subitem *"Conservação da amostra e envio ao laboratório"*.

Foto: Juliana Dias



**Figura 6.** Frascos de coleta identificados com etiquetas coladas no sentido vertical.

## Latão

### ♦ Procedimentos

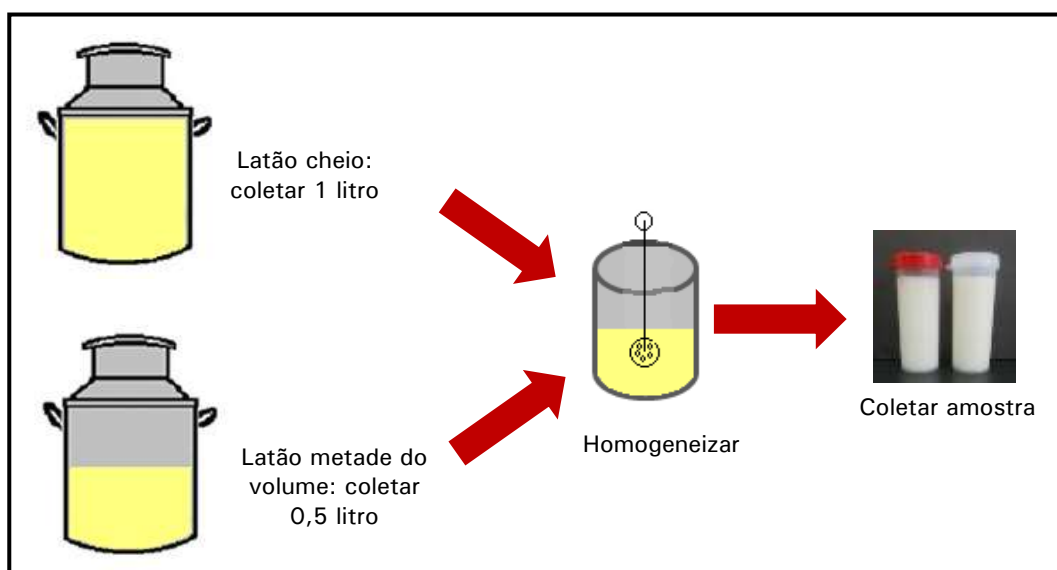
- ✓ Observar se há anormalidade no leite. Em caso de alterações não realizar a coleta e registrar a ocorrência.
- ✓ Anotar o volume do leite total do latão.
- ✓ Para a coleta adequada da amostra do latão, finalizar a ordenha e realizar a homogeneização do leite utilizando o homogeneizador manual. Para este processo, proceder dez movimentos suaves de cima para baixo (Figura 7).
- ✓ Após o processo de homogeneização, coletar amostra de leite com o auxílio de um coletor e transferir para o frasco.



Foto: Fernanda Ferreira

**Figura 7.** Leite armazenado no latão em processo de homogeneização.

- ✓ Realizar a homogeneização da amostra, invertendo os frascos até a dissolução completa das pastilhas de conservante.
- ✓ No caso de existirem vários latões, transferir quantidades de leite proporcionais ao volume de cada latão para outro recipiente, proceder a homogeneização, e retirar o volume necessário para o frasco que levará a amostra. Um exemplo deste procedimento está mostrado na Figura 8.

**Figura 8.** Esquema para o procedimento de homogeneização em caso de haver mais de um latão de leite.

Fonte: Elaborado pelos autores.

- ✓ Identificar as amostras com as etiquetas encaminhadas juntamente com os frascos. Colar as etiquetas no sentido vertical. Os frascos para determinação de CCS e CTB do mesmo rebanho terão o mesmo número descrito na etiqueta, o qual deverá corresponder à identificação do referido rebanho.
- ✓ Imediatamente após a coleta, as amostras de leite devem ser acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável.

♦ **Precaução**

- ✓ Manter o frasco no momento da coleta fora da área de abertura do tanque/latão, para que o conservante não caia no leite armazenado. Caso esta situação ocorra, o leite deverá ser desprezado.

## Coleta de amostra de leite individual

### Ordenha manual e ordenha mecânica em balde

- ♦ Ao fim da ordenha do animal realizar a homogeneização do leite total individual utilizando o homogeneizador manual. Para este processo, proceder dez movimentos suaves de cima para baixo (Figura 9).
- ♦ Após o processo de homogeneização, coletar amostra de leite com o auxílio de um coletor e transferir para o frasco. Realizar a homogeneização da amostra, invertendo os frascos até a dissolução completa das pastilhas de conservante.
- ♦ Identificar as amostras com as etiquetas encaminhadas juntamente com os frascos. Colar as etiquetas no sentido vertical. Os frascos para determinação de CCS e CTB do mesmo animal terão o mesmo número descrito na etiqueta.
- ♦ Imediatamente após a coleta, as amostras de leite devem ser acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável.



Foto: Juliana Dias

**Figura 9.** Procedimento para homogeneização do leite em baldes.

♦ **Precaução**

- ✓ Manter o frasco no momento da coleta fora da área de abertura do balde, para que o conservante não caia no leite. Caso esta situação ocorra, o leite deverá ser desprezado.
- ✓ Em caso de uso de ordenhadeira balde ao pé com mais de um conjunto de teteiras, um animal deve ser ordenhado por vez, para evitar que o leite de diferentes animais se misture no balde.

### Ordenha mecânica com medidores de leite

- ♦ Nesta situação, após o término da ordenha, a amostra de leite pode ser coletada diretamente do medidor para o frasco de coleta. No entanto, a amostra deve ser também homogeneizada. Essa homogeneização é realizada permitindo a entrada de ar no medidor por, no mínimo 15 segundos.
- ♦ Após a coleta e transferência da amostra para o frasco, realizar a homogeneização invertendo os frascos várias vezes, até a dissolução completa das pastilhas de conservante.
- ♦ Identificar as amostras com etiquetas encaminhadas pelo laboratório e acondicionar as amostras em caixa isotérmica com gelo reciclável para envio ao laboratório.



## Procedimentos para a coleta de amostras de leite de tanques de expansão/latões para determinação de resíduos de antibióticos

Para o procedimento de coleta de amostras de leite total (latão e tanques de expansão) são utilizados os mesmos critérios descritos no item anterior, a fim de obter amostra representativa da produção total do leite do rebanho. Alguns cuidados devem ser considerados como a importância da capacitação dos técnicos que serão responsáveis pela coleta, procedimentos operacionais e formulários de identificação de amostras.

### Material necessário

#### ♦ Frascos

Para a coleta de amostras de leite para a determinação de resíduos de antibióticos, devem ser utilizados frascos de polipropileno de 500 mL, de primeiro uso, disponibilizados pelo laboratório responsável pelas análises (Figura 10).



Foto: Fabiane Goldschmidt

**Figura 10.** Frasco de polipropileno usado na coleta de leite para a determinação de resíduos de antibióticos.

### Procedimento

#### ♦ Coleta, identificação e conservação das amostras de leite

- ✓ Seguir os procedimentos a serem realizados antes da coleta de amostras em tanque de expansão/latão conforme descrito no item “Coleta de amostras de leite total”.
- ✓ Após a homogeneização do leite no tanque de expansão ou latão, realizar a coleta utilizando um coletor específico ou tipo concha, devidamente higienizado. Acondicionar a amostra no frasco de polipropileno, não completando todo o volume disponível no frasco (Figura 11).
- ✓ Identificar o frasco com a etiqueta de código de barras correspondente ao produtor, enviada pelo laboratório. Colar as etiquetas no sentido vertical do frasco.
- ✓ Colocar a amostra em um saco plástico e fechá-lo, para evitar que as etiquetas de identificação sejam removidas ou danificadas, impossibilitando a leitura no laboratório (Figura 12).



Foto: Fabiane Goldschmidt

**Figura 11.** Amostra de leite no frasco após a coleta. A linha pontilhada indica o volume máximo de leite no frasco.



Foto: Fabiane Goldschmidt

**Figura 12.** Amostra de leite, após identificação e embalagem.



- ✓ Proceder o congelamento das amostras.
- ✓ Após o congelamento, acondicionar hermeticamente as amostras em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, para garantir que as mesmas cheguem ao Laboratório de Qualidade do Leite em condições adequadas para análise (Figura 13).
- ✓ As amostras somente serão analisadas no Laboratório de Qualidade do Leite se estiverem congeladas (amostra que se revelar, ao tato, completamente sólida) ou com cristais de gelo (amostra que se revelar, ao tato, amolecida em sua superfície, mas com o centro sólido, ou que revelar a presença de cristais de gelo).
- ✓ As amostras devem ser enviadas ao laboratório no prazo máximo de sete dias após a coleta.



Foto: Fabiane Goldschmidt

**Figura 13.** Amostra de leite acondicionada em caixa isotérmica contendo gelo reciclável para envio ao laboratório.

## Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Instrução normativa n. 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento técnico de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Seção 1, p. 13, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Instrução normativa n. 62, de 30 de dezembro de 2011. Regulamento técnico de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Seção 1, p. 6, 2011.

GOODRIDGE, L.; LENCKI, R. W. A review of international standards and the scientific literature on farm milk bulk-tank sampling protocols. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 9, p. 3099-3104, 2004.

MANUAL de coleta de amostras do PNCR/MAPA. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2011. 48 p. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/RCA/Manual%20de%20coleta%20de%20amostras%202010.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Laborat%C3%B3rios/RCA/Manual%20de%20coleta%20de%20amostras%202010.pdf)>. Acesso em: 10 abr. 2012.



## Anexo 1

<b>Formulário de Identificação de Amostras de Leite para Análise no Laboratório de Qualidade de Leite</b>					
Solicitante:			Data da solicitação:		
Propriedade:		Código do Rebanho/ Indústria:			
Endereço:			Telefone/Fax:		
Número de ordenhas: (    )1      (    )2      (    )3		Ordenha coletada: (    )Manhã      (    )Tarde      (    )Noite			
Análises solicitadas:     (    ) Contagem de células somáticas e componentes  (    ) Contagem bacteriana total					

[illegible]

\* A identificação da amostra pode ser o código/nome do produtor para cooperativas ou o nome/número do animal para fazendas.





**Embrapa**

---

***Rondônia***

Ministério da  
**Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA